



TITLE:

Ⅲ型ポリケチド合成酵素の機能分類法の開発と機能予測への応用(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

清水, 祐吾

CITATION:

清水, 祐吾. Ⅲ型ポリケチド合成酵素の機能分類法の開発と機能予測への応用. 京都大学, 2017, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2017-05-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20553>

RIGHT:

This is the accepted version of the following article: Y. Shimizu, H. Ogata, S. Goto, ChemBioChem 2017, 18, 50765 which has been published in final form at doi:10.1002/cbic.201600522. This article may be used for non-commercial purposes in accordance with the Wiley Self-Archiving Policy <https://authorservices.wiley.com/author-resources/Journal-Authors/licensing-open-access/open-access/self-archiving.html>. This is a pre-copyedited, author-produced version of an article accepted for publication in Bioinformatics following peer review. The version of record Shimizu Y. et al. (2017), Discriminating the reaction types of plant type III polyketide synthases. Bioinformatics, in press is available online at: doi:10.1093/bioinformatics/btx112; 許諾条件により本文は2017-12-01に公開

(続紙 1)

京都大学	博 士（理 学）	氏名	清水 祐吾
論文題目	Ⅲ型ポリケチド合成酵素の機能分類法の開発と機能予測への応用		
(論文内容の要旨)			
<p>ポリケチドは主要な二次代謝産物の一つであり、その多様な化学構造と生理活性から、医薬品を始めとした様々な有用化合物の探索源となっている。近年、ゲノムやトランスクリプトーム等の配列情報が大量に蓄積されてきたことに伴い、計算機的手法によって新規機能を持つ二次代謝産物の合成に関わる遺伝子を探す試みが注目を集めている。しかし、二次代謝に関連する遺伝子はパラログを多く含んでいることから、網羅的な自動機能アノテーションが難しく、個々の遺伝子ファミリーに合わせた手法の開発が必要とされている。本論文では、ポリケチドの生合成を担うポリケチド合成酵素（PKS）のうちⅢ型に分類されるものに着目し、その機能分類法を開発し、詳細かつ体系的な分類を確立している。さらに、その応用として、機能分類を用いた植物Ⅲ型PKSの機能予測法を開発を試みている。</p> <p>最初に、Ⅲ型 PKS の酵素としての機能（基質、反応、生成物、関連する酵素等）を実験により確認した文献を収集、整理し、既知 PKS のアミノ酸配列に対する詳細な機能アノテーションを行っている。Ⅲ型 PKS の多様な機能は主に、(1) 取り得る開始基質、(2) 伸長基質・回数の違い、(3) 縮合後の分子内環化位置の組み合わせによってもたらされる。この3つの要素を化学的な性質に基づいて体系的に分類・単純化・記号化することにより、Ⅲ型 PKS を合計53種類の反応タイプ（群）に分類している。さらにこれを反応要素でグループ化することにより、植物で11種類、菌類で3種類、原生生物で3種類、細菌で3種類の類似機能グループに分類している。これにより、広い基質特異性を持つⅢ型 PKS の機能を簡潔にかつ客観的に表現することが可能になった。系統解析の結果、反応タイプとタンパク質の系統関係との間に弱い相関があるが、植物では、遺伝子重複後の独立な機能変化により多種多様なパラログが形成されており、配列類似性と反応の類似性が対応しない部分も多く見出している。</p> <p>次に、植物に頻出する3つの反応タイプ（R-4-A、R-4-C、R-2-X）に関わる酵素のアミノ酸配列を2つのアプローチでモデル化することにより、植物Ⅲ型 PKS のパラログの機能分類予測を試みている。1つ目のアプローチは、R-4-A タイプと R-4-C タイプ間の既知タンパク質立体構造の差異部分にあたる4つのアミノ酸配列セグメントを組み合わせ、プロファイル隠れマルコフモデルを構築するものである。2つ目のアプローチは、同じ反応タイプの配列間で共進化している、機能的・構造的に重要であると考えられる残基ペアの相関度合いでプロファイル化する方法である。本論文では、相関が見られる残基ペアの位置を相互情報量に基づいて検出し、その位置ペアにおける相関度合いを測るための相関スコアを簡潔な式で定義している。これらを組み合わせ、線形判別分析により分類器を作成した結果、3つの反応タイプは全て正しく予測され、それ以外の反応タイプともおおよそ識別することに成功している。この分類器を組み合わせたパイプラインはツールとして実装し、一般に公開している。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

申請者は、医薬品などの有用化合物の探索源となっている二次代謝産物を合成する酵素のうち、Ⅲ型ポリケチド合成酵素 (PKS) に着目し、配列情報と機能とを結びつけるための、ユニークかつ有用な研究を行った。論文では、まず、既知の多様なⅢ型 PKS の機能を網羅的に調べ、酵素が触媒する反応形式に基づいた独自の分類体系を構築している。また、その結果を配列類似度検索だけでは困難な植物Ⅲ型 PKS の機能予測問題に応用している。さらに、予測問題を解くために構築した反応タイプごとの分類器を組み合わせたパイプラインをツールとして実装し、一般に公開している。

分類体系の構築では、Ⅲ型 PKS の多様な機能が主に、(1) 取り得る開始基質、(2) 伸長基質・回数の違い、(3) 縮合後の分子内環化位置の組み合わせによってもたらされることに着目している。この3つの要素を化学的な性質に基づいて体系的に分類・単純化・記号化し、「-」で結びつけた反応タイプ (例: L-4m-A) を定義している。その結果、配列情報に基づく遺伝子ファミリーや酵素番号に基づく従来の分類体系では表現できなかった、全く新しい分類体系を提案することに成功している。得られた53種類の反応タイプから構成される分類群を、酵素のアミノ酸配列による系統関係を比較した結果、弱いながらも相関は得られている。一方で、植物に多く見られるパラログ遺伝子では配列類似性と反応類似性との対応が取れない部分も多く見出している。

植物Ⅲ型 PKS の機能予測問題では、上記のような反応類似性と配列類似性の対応が取れない、植物に頻出する3つの反応タイプを配列情報から予測する方法を開発している。これらの3つのうち2つの反応タイプについては立体構造データが報告されている PKS があり、その比較から反応タイプの違いを説明すると考えられる4つのセグメントが報告されている。申請者はまず、この4つのセグメントに対する配列プロファイルを用いたが、それだけでは3つの反応タイプを区別するには不十分であったため、さらに相互情報量に基づくアプローチを組み合わせることにより、予測精度の向上を実現している。

一般に二次代謝産物の合成反応・経路は多様・複雑である。そのため、本論文で提案されているような、計算機で扱いやすく、酵素反応の特徴をよく表した機能分類体系を構築することは、二次代謝産物の機能予測手法の開発に重要である。また、本論文における予測手法に採用した原理は、通常の配列類似度検索では予測が難しいパラログファミリーの機能分類を可能にするものであり、他の二次代謝産物合成酵素遺伝子ファミリーの機能予測にも有用であると考えられる。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として価値あるものと認める。また、平成29年4月7日に論文内容とそれに関連した事項について試問を行った。その結果、合格と認めた。